

THESIS

München
MÜNCHEN

1968

4

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität München

Direktor: Professor Dr. W. Seitz

TIERVERSUCHE ZUR FRAGE DER SYNERGISTISCHEN WIRKUNG
VON HUMINSÄUREN UND NOVOCAIN
BEI GLEICHZEITIGER APPLIKATION

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Jürgen Blum
aus München

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
MEDICAL CENTER
STANFORD, CALIF. 94305

München 1968



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40154017_0076

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität München

Direktor: Professor Dr. W. Seitz

TIERVERSUCHE ZUR FRAGE DER SYNERGISTISCHEN WIRKUNG
VON HUMINSÄUREN UND NOVOCAIN
BEI GLEICHZEITIGER APPLIKATION

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Jürgen Blum
aus München

München 1968

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität München

Referent: Privatdozent Dr. med. H. MATHIES

Korreferent: Professor Dr. W. SEITZ

Dekan: Professor Dr. F. MARGUTH

Tag der mündlichen Prüfung: 10.12.1968

INHALTSVERZEICHNIS

Problematik	S. 3
Übersicht über bisherige Untersuchungen mit Moor ..	S. 4
Methodik	S. 13
Versuchsreihen	S. 15
Tabellen	S. 18
Diskussion	S. 23
Zusammenfassung	S. 25
Literaturverzeichnis	S. 26
Abbildungen	S. 27

Problematik

Das Ausmaß der Bedeutung des Mucopolysaccharid-Mucopolysaccharidasen-Systems für die Pathologie der rheumatischen Erkrankungen ist keineswegs restlos geklärt. Trotzdem ist es für die Erforschung rheumatologischer Fragen von großer Bedeutung, Teilgebiete des rheumatischen Geschehens und damit Möglichkeiten der antirheumatischen Therapie zu untersuchen. Die Hemmung der Hyaluronidaseaktivität stellt nach Auffassung mancher Autoren einen Teileffekt der antirheumatischen Wirkung dar, wobei Einigkeit über die Nichtidentität von hyaluronidasehemmender Wirkung und antirheumatischen Effekt besteht.

Die Schwierigkeiten zeigen sich schon darin, daß die meisten hyaluronidasehemmenden Substanzen nur in vivo bei bestimmten Versuchsanordnungen und nur ein Teil davon auch in vitro eine Wirkung haben, und somit ein direkter Antihyaluronidase-Effekt bereits fraglich erscheint. Der bis dahin weitgehend unbekannte Wirkungsmechanismus dieser in vivo hyaluronidasehemmenden Pharmaka war in den letzten Jahren das Thema vieler Untersuchungen; es wurden hierfür vor allem die in der Klinik antirheumatisch wirkenden Substanzen herangezogen, wie Salicylate, ACTH, Cortison, Östrogene, Roßkastanie, Moor- und Schwefelbäder, für die alle eine hyaluronidasehemmende Wirkung bewiesen wurde.

Zu beachten ist dabei, daß mit den üblichen Untersuchungsmethoden, von denen eine in dieser Arbeit angewendet wurde, nur jeweils ein gewisser Sektor des Komplexes der antirheumatischen Wirkung erfaßt werden kann (1).

Methodisch ist im Tierversuch eine erhöhte Permeabilität schwer von einer speziellen Hyaluronidasewirkung, die beide im rheumatischen Geschehen eine Rolle spielen (2), zu trennen, und entsprechend sind die Schwierigkeiten bei der Auswertung der Versuchsergebnisse über eine hyaluronidasehemmende Wirkung antirheumatischer Substanzen.

Die antirheumatische Wirkung setzt sich neben der hyaluronidasehemmenden Wirkung aus mehreren, z.T. noch unbekannten Komponenten zusammen. Hierzu gehört der ebenfalls schwer objektivierbare analgetische Effekt und die antiphlogistische Wirkung, die nicht immer dem hyaluronidasehemmenden Effekt parallel geht (1).

Übersicht über bisherige Untersuchungen mit Moor

Es sind antirheumatisch wirksame Behandlungsmethoden ohne sofortigen analgetischen Effekt bekannt, die deshalb erst nach längerer Gabe bzw. Latenzzeit wirksam werden, wie z.B. die Moorbäder und die aus Moor isolierten Huminsäuren, deren hyaluronidasehemmender Effekt bekannt ist.

Die Untersuchungen hierüber wurden mit der Technik des Farbstoff-Hyaluronidase-Spreadings sowie mit Hilfe des Diffusionstests mit radioaktiven Sulfationen gemacht (3).

Es wurden von MATHIES und Mitarbeitern verschiedene Moore in verschiedener Konzentration und bei verschieden langer Einwirkungsdauer zur Anwendung gebracht. Es handelt sich dabei um die Moore von Bad Neydharting (4), Bad Reichenhall (5), und Bad Wurzach (6), ferner um Pela-Moorlauge (7) und Huminsäuren (8,9). Die Art der Anwendung erfolgte als Badeapplikation, teils am Tier, teils am Menschen.

MATHIES (4) konnte zeigen, daß die Moorschwebstoffbäder mit einer Suspension des Neydhartinger Moores eine Hyaluronidasehemmung bewirken. In weiteren Untersuchungen versuchten MATHIES und Mitarbeiter (5,10,11) den Wirkungsmechanismus dieser Hyaluronidasehemmung aufzuklären, der ja ein wesentlicher Teil des Therapieeffektes antirheumatischer Behandlungsmethoden zugeschrieben werden muß. Diese Arbeiten, in denen Bad Reichenhaller Moorbrei- und Moorschwebstoff verwendet wurde, haben gezeigt, daß die Hyaluronidasehemmung an die inkretorische Funktion des Nebennierenmarks mit einer Katecholaminausschüttung gebunden ist. Die Zunahme des Nebennieren-Gewichtes nach Moorschwebstoffbädern unabhängig vom Katecholamingehalt der Nebenniere (NN) und von der Art des Bades war auf eine allein durch die Wärme des Bades bedingte Hyperämie zurückzuführen.

Die Versuchsergebnisse mit Reichenhaller Moorbädern (5) zeigten gegenüber Wasserbädern eine Hyaluronidasehemmung von 63,3 bis 50,5 %, die über 20 bis 30 Minuten nach Beendigung des Bades andauerte. Beim Schwebstoffbad trat eine signifikante Hemmung erst 90 bis 120 Minuten nach dem Bad auf.

Diese Ergebnisse stimmten mit den bei Messungen des Katecholamingehalts der NN erhobenen Befunden überein. Das Verhalten der bei Moorschwebstoffbädern gegenüber Moorbreibädern später einsetzenden Hyaluronidasehemmung wurde am ehesten als verzögerte Resorption der Wirkstoffe diskutiert. Sowohl für den Reichenhaller Moorbrei als auch für den Schwebstoff war jedoch damit eine hyaluronidasehemmende Wirkung erwiesen.

Betreffs der Funktion der NN bei der Hyaluronidasehemmung war zu zeigen, ob neben der hyaluronidasehemmenden Wirkung anderer Substanzen wie z.B. der Acetylsalicylsäure (12) auch die bei Moorbädern gefundene hyaluronidasehemmende Wirkung allein oder teilweise als Nebennierenmarks (NNM)-Funktion aufzufassen ist. MATHIES hatte durch Versuche an adrenalektomierten und hypophysektomierten Tieren am Beispiel der Acetylsalicylsäure beweisen können, daß zum Zustandekommen der Hyaluronidasehemmung nicht, wie oft angenommen, eine NN-Rinden-Hormonausschüttung, sondern eine Adrenalin-ausschüttung aus dem NNM notwendig ist (13,14,15). Dabei trat die Hyaluronidasehemmung erst in der Gegenregulation auf die Adrenalinwirkung auf (13,15). Auch Noradrenalin ruft, wie weitere Untersuchungen gezeigt haben (16), eine Hyaluronidasehemmung hervor.

Bei adrenalektomierten Tieren blieb auch nach Reichenhaller Moorbreibad und Schwebstoffbad die bei Normaltieren vorhandene Hyaluronidasehemmung aus, dagegen blieb die Hyaluronidasehemmung bei hypophysektomierten Tieren unter Moorbreibädern erhalten (5). Nach Versuchen von DOMENJOZ mit in der Rheumatherapie üblichen chemischen Substanzen bei hypophysektomierten Ratten blieb die bei Normaltieren deutliche Ascorbinsäure- und Cholesterinabnahme der NN, die als Zeichen der inkretorischen Rindenaktivität angesehen wird, aus. Folglich ist die inkretorische Aktivität der NNR für die Hyaluronidasehemmung nicht erforderlich. Also war das NNM für die in vivo-Hyaluronidasehemmung verantwortlich zu machen.

Diese Folgerungen konnten durch Versuche mit Adrenalin und Noradrenalin bei adrenalektomierten Ratten erhärtet werden (13,16), die eine Hyaluronidasehemmung gleicher Größenordnung ergaben. Schließlich wurde von MATHIES und v. WERTHER eine Katecholaminausschüttung nach Reichenhaller Moorbrei- und Schwefelstoffbädern

gezeigt (10). Auch das Bad als solches übte eine geringe Hemmung auf die Hyaluronidaseaktivität aus, die jedoch nicht als Moor- sondern als reiner Badeeffekt aufzufassen ist.

Zur experimentellen Bestimmung des Katecholamingehaltes von Rattennebnieren wurde die Methode nach BRÜGGEMANN, KARG und KAPPELER (17) benutzt, die allerdings die Gesamtkatecholamine erfaßt.

Die Versuchsergebnisse zeigten, daß während eines Moorbades der Katecholamingehalt der NN um fast 7 γ /100g anstieg, was als eine erhöhte Katecholaminbildung mit gleichzeitiger Bremsung der laufenden Normalausschüttung diskutiert wurde. Nach Beendigung des Bades fiel der Katecholamingehalt unter den Normalwert ab und pendelte, entsprechend einem typischen Regulationsverhalten, mit einem Minimum bei 120 min nach Beendigung des Bades aus. Das Absinken der Katecholamine, resultierend aus Ausschüttung und Neubildung, bedeutet eine Ausschüttung der Katecholamine aus dem NNM. Diese Ausschüttung erfolgt aber nicht nur auf Kosten der vorhandenen Depots, was das erhebliche Ansteigen des Katecholamingehaltes während des Moorbades beweist. Das Absinken unter den Normalwert entspricht einer zweiten Phase der Ausschüttung. Der Gegenregulation auf die Katecholaminausschüttung kommt für die Hyaluronidasehemmung durch antirheumatische Substanzen, demnach auch durch die Wirkstoffe aus Moor, eine besondere Bedeutung zu.

Die Bestimmungen des Katecholamingehaltes der NN nach Moorbrei- und Moorschwebstoffbädern mit Reichenhaller Moor im Vergleich zu Kontrollwerten nach Wasserbädern und Leerwerten unbehandelter Ratten zeigten (10), daß beide Mooranwendungen Katecholaminausschüttungen bewirken, wie sie als notwendig für die therapeutisch wichtige Hyaluronidasehemmung gefunden wurden.

Über den Mechanismus der Adrenalindynamik wurde weiterhin festgestellt, daß zwar die beim Menschen gefundene laufende Normalausschüttung von Adrenalin (0,01-0,02 γ /100 g/min) nur bedingt auf die Verhältnisse bei der Ratte übertragen werden kann (der Adrenaliningehalt bezogen auf 1g NN-Gewicht beträgt beim Menschen 0,8-0,3 mg, bei unbehandelten Ratten 1,87 mg), so ist doch sehr wahrscheinlich, daß der Katecholaminanstieg während des Moorbades

(etwa 6 μ /100g) nicht Folge einer gebremsten Ausschüttung, sondern einer gesteigerten Bildung ist (18). Eine gleichzeitige Bremsung der laufenden Ausschüttung war jedoch nicht ausgeschlossen, wenn man die Befunde von KMIETOWITCZ und KOSKOWSKI (19) berücksichtigt, die im Wasserbade eine Blutdrucksenkung und Verringerung des Herzminutenvolumens und nach dem Moorbad Blutdrucksteigerung und Pulsbeschleunigung und Herzminutenvolumen-Vergrößerung beobachteten, wobei letztere Befunde die Folge der nach dem Bad stattfindenden Adrenalinausschüttung sind, die sich wie oben gesagt, aus Neubildung und Ausschüttung des Normaladrets zusammensetzt, also mindestens die Differenz von Maximum und Minimum (11,506 μ /100g) beträgt (18), die höher liegt als diejenige unter Acetylsalicylsäure (6,77 μ /100g).

Nach MATHIES und JANKOWSKI (15) tritt die Hyaluronidasehemmung durch Adrenalin nicht unter der Einwirkung der Substanz selbst, sondern nach Abklingen der Adrenalinwirkung in der Gegenregulation auf. Aus zahlreichen Untersuchungen ist bekannt, daß auch in der Bädertherapie der therapeutische Effekt mit der vagischen Gegenregulation auf die primäre sympathicotone Phase eintritt. (20).

Die Gewichtszunahme der NN sowohl nach Moor- als auch nach Wasserbädern wurde im Zusammenhang mit der makroskopisch beobachteten Hyperämie als durchblutungsfördernder Effekt der warmen Bäder aufgefaßt (18). Nach REICHEL (21) sind während des Bades die Kapillaren der Haut eng gestellt, die der Abdominalorgane aber extrem erweitert.

MATHIES untersuchte weiterhin die Hyaluronidasehemmung bei veränderten Badetemperaturen und Bademedien (22,23), und fand nach kalten Moorbädern von 17°C eine gleichstarke Hyaluronidasehemmung wie bei den gleichen Bädern von 35°C; ein Unterschied lag nur im zeitlichen Ablauf, indem die Hemmung bei den niedrigen Temperaturen später auftrat und früher wieder zurückging. Der Wärmeeffekt spielt also bestenfalls für den zeitlichen Ablauf eine Rolle. Dagegen zeigten warme Wasserbäder von 35°C keinerlei hyaluronidasehemmende Wirkung. Der Wärmeeffekt bei der Hyaluronidasehemmung wirkt also höchstens begünstigend. Die Wirkung

der Moorbäder muß demnach, wie schon gesagt, in mooreigenen Wirkstoffen zu suchen sein.

In einer weiteren Untersuchung ging MATHIES (24) der Frage nach, wieweit neben dem NNM die NNR am Zustandekommen der Hyaluronidasehemmung beteiligt ist. Zu diesem Zweck wurden dieselben Versuche wie an intakten Ratten an hypophysektomierten und adrenaletomierten Ratten sowie an intakten Ratten nach vorheriger Ergotamintartrat-Injektion wiederholt, ferner der Ascorbinsäuregehalt der NN nach Moorbädern bei intakten und hypophysektomierten Tieren bestimmt. Die Ascorbinsäureabnahme der NN nach Moorbädern als Zeichen einer Aktivierung der Rindenfunktion war bei intakten Ratten deutlich, blieb jedoch bei hypophysektomierten Ratten aus, was den Schluß nahelegte, daß eine Rindenwirkung zwar vorhanden, jedoch für die Hyaluronidasehemmung nicht maßgebend ist, die, wie gesagt von der NNM-Funktion abhängt. Diese Annahme wurde gestützt durch die Befunde einer hyaluronidasehemmenden Wirkung des Adrenalins und Noradrenalins auch bei adrenaletomierten Ratten, sowie durch die Möglichkeit, die hyaluronidasehemmende Wirkung sowohl der Katecholamine als auch der Moorbäder durch Ergotamintartrat aufzuheben (23).

MATHIES, FUCHS und HIEMANN (6) untersuchten, nachdem die Versuche mit Reichenhaller und Neydhartinger Moor abgeschlossen waren, noch die hyaluronidasehemmende Wirkung des Bad Wurzacher Moores und die dabei auftretende Beeinflussung des Katecholamin- und Ascorbinsäuregehaltes der NN, ebenfalls mit der Technik des Hyaluronidase-Spreadings. Es zeigte sich ein im Vergleich mit den oben genannten Mooraufbereitungen auffallend starker hyaluronidasehemmender Effekt, der bei vergleichsweise durchgeführten Wasserbädern gleicher Temperatur und Dauer nicht auftrat. Es wurde auch eine geringe, aber statistisch gesicherte Ausbreitungshemmung des reinen Farbstoffs ohne Hyaluronidasebeigabe festgestellt, wobei eine hyaluronidaseunspezifische, permeabilitätshemmende Wirkung oder ein Einfluß auf die natürliche Gewebshyaluronidase diskutiert wurde.

Das Verhalten der NN bei und nach den Bädern in der Verdünnung 1:2 bei 37°C und 30min Badedauer erwies sich als entsprechend den früheren Ergebnissen mit Reichenhaller und Neydhartinger Moor.

Eine andere Anwendungsform der Moorbäder wurde durch Verabreichung von Bädern in sogenannten Moorlaugen, die alkalische Moorauszüge darstellen, untersucht (7). Es handelt sich hierbei im Unterschied zu den Moorbrei- und Moorschwebstoffbädern um keine Anwendung eines Nativmoores. Von den bekannten Moorlaugen wurde von ACHTIANI die Pela-Moorlauge angewandt, die einen relativ geringen Alkaligehalt aufweist. Die Ergebnisse zeigten, daß auch diese Bäder eine statistisch zu sichernde starke Hyaluronidasehemmung von maximal 82,9% (40 min nach Ende des Bades) bewirken, während die von MATHIES, v. WERTHER und ROSCH (26) gefundenen Werte bei 36,4% (Reydhartinger Moorschwebstoffbad) und 37,7% (Reichenhaller Moorbreibad) lagen, die allerdings nicht unbedingt zu quantitativen Wirkungsvergleichen berechtigen.

Anschließend konnte also festgestellt werden, daß bei Ratten sowohl Bäder einer Moorlaugenkonzentration von 1:1500 als auch Bäder in einem Schwebstoff von 1:1500 bzw. in einem Brei von 3:4 aus Nativmooren verschiedener Moorkommen eine statistisch gesicherte hyaluronidasehemmende Wirkung zeigen, und daß dabei kein Wärmeeffekt, sondern die im Moor enthaltenen Wirkstoffe maßgebend sind.

Von HAUPT wurden noch zusätzliche Versuche mit länger dauernden Moorbadeserien durchgeführt (27). Er konnte zeigen, daß die im unmittelbaren Anschluß an ein Moorbad feststellbare Hyaluronidasehemmung nach einem Zeitraum von einem Monat nicht mehr sichtbar war. Dagegen war nach einer Badeserie von vier Wochen mit einer Badefrequenz von zwei Tagen auch einen Monat nach der letzten Behandlung noch die fast vollständige Hyaluronidasehemmung zu erkennen. Auch nach dieser Karenzzeit war diese Hemmung durch Ergotamin tartrat- und Protaminsulfat-Injektionen aufzuheben.

Im Zusammenhang mit den früheren Untersuchungen sprachen diese Ergebnisse ebenfalls für die Bedeutung einer Katecholaminwirkung bei der Aufrechterhaltung der Hyaluronidasehemmung durch Moorbäder.

JOACHIMOWITS (31) glaubte festgestellt zu haben, daß der therapeutische Effekt von Moorbadekuren durch gleichzeitige oder vorhergehende Novocaininjektion verstärkt würde. Dabei sollten subcuta-

ne Novocaininjektionen besonders wirksam sein. Die Erklärung für diesen Effekt sah er in einer vegetativen Umstimmung, wodurch möglicherweise die vagotone Gegenregulationsphase, in der auch Moorbäder ihre Wirkung entfalten sollen (20), positiv beeinflusst wird.

Entsprechende Untersuchungen mit aus Moorborkommen Brasiliens isolierten Huminsäuren wurden bisher nur bei gleichzeitiger Anwendung von i.v. Novocaingaben von ERHARD (29) durchgeführt.

OSTERBURG stellte eine deutliche Hyaluronidasehemmung durch die Huminsäuren zweier brasilianischer Moorborkommen fest, die bei den hohen Verdünnungen (0,000092 mg pro kg Tiergewicht) allerdings erst zu einem späteren Zeitpunkt und in geringerem Ausmaß in Erscheinung trat.

Mittelwertstabellen von OSTERBURG:

1) Leerversuche mit Tyloseschleim a.p.

Gewicht 272g	F_v	F_{30}	F_{60}	FH_v	FH_{30}	FH_{60}
	100	105	100	100	100	100
Diff.			+5		-5	-5

Zeichenerklärung: F_v u. FH_v = Farbstoff- u. Farbstoff-Hyaluronidase-Vorquaddel

F u. FH = Farbstoff- u. Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel

Die Mittelwertsdifferenzen liegen im Bereich der Fehlerbreite; keine Hyaluronidasehemmung.

2) Huminsäuren Typ I, 0,0046 mg pro kg (Verdünnung 1:10)

Gewicht 263g	F_v	F_{30}	F_{60}	FH_v	FH_{30}	FH_{60}
	104	94	100	200	165	172
Diff.		-10	-4		-35	-28

Gewicht 259g	F_v	F_{90}	F_{120}	FH_v	FH_{90}	FH_{120}
	109	96	104	205	174	177
Diff.		-13	-5		-31	-28

3) Huminsäuren Typ I, 0,00046 mg pro kg (Verdünnung 1:100)

Gewicht 273g	F _v	F ₃₀	F ₆₀	FH _v	FH ₃₀	FH ₆₀
	102	94	102	188	185	166
Diff.		-8	-1		-3	-20
Gewicht 250g	F _v	F ₉₀	F ₁₂₀	FH _v	FH ₉₀	FH ₁₂₀
	116	105	107	212	185	194
Diff.		-11	-9		-27	-18

4) Huminsäuren Typ I, 0,000092 mg pro kg (Verdünnung 1:500)

Gewicht 246g	F _v	F ₃₀	F ₆₀	FH _v	FH ₃₀	FH ₆₀
	122	110	118	207	209	195
Diff.		-12	-4		+2	-12
Gewicht 240g	F _v	F ₉₀	F ₁₂₀	FH _v	FH ₉₀	FH ₁₂₀
	122	119	118	219	200	202
Diff.		-3	-4		-19	-17
Gewicht 310g	F _v	F ₁₅₀	F ₁₈₀	FH _v	FH ₁₅₀	FH ₁₈₀
	131	115	111	229	165	163
Diff.		-13	-20		-40	-46

Aus den Versuchsreihen unter 2-4 ist eine deutliche Hyaluronidasehemmung, abhängig von den jeweiligen Versuchszeiten und Verdünnungen, festzustellen.

5) Huminsäuren Typ II, 0,0046 mg pro kg (Verdünnung 1:10)

Gewicht 295g	F _v	F ₃₀	F ₆₀	FH _v	FH ₃₀	FH ₆₀
	123	114	113	210	175	185
Diff.		-9	-10		-25	-27
Gewicht 286g	F _v	F ₉₀	F ₁₂₀	FH _v	FH ₉₀	FH ₁₂₀
	116	110	117	214	164	171
Diff.		-6	+1		-50	-45

5) Huminsäuren Typ II, 0,0046 mg pro kg (Verdünnung 1:100)

Gewicht 260g	F _v	F ₃₀	F ₆₀	FH _v	FH ₃₀	FH ₆₀
	174	126	124	235	203	209
Diff.		-8	-10		-32	-26

Gewicht 314g	F _v	F ₉₀	F ₁₂₀	FH _v	FH ₉₀	FH ₁₂₀
	127	119	112	214	196	176
Diff.		-8	-15		-18	-38

Auch aus den Werten unter 5 und 6 ist eine eindeutige Hyaluronidasehemmung zu ersehen.

Aufgabe der hier vorgelegten Arbeit sollte sein, die Beeinflussung des hyaluronidasehemmenden Effekts der aus den genannten Moorkorkommen isolierten Huminsäuren durch s.c. Novocaingaben zu untersuchen. Für diese Untersuchungen wurden die isolierten Huminsäuren nur eines der beiden brasilianischen Moorkorkommen herangezogen, nachdem zunächst die hyaluronidasehemmende Wirkung der Huminsäuren beider Moore überprüft wurde. Der hyaluronidasehemmende Effekt des Novocains sowohl bei i.v. Gabe als auch besonders bei s.c. Applikation wurde bereits festgestellt.

Auf Anregung von JOACHIMOVITS hin waren von ERHARD (29) erste Untersuchungen über eine Wirkungssteigerung des Mooreffektes durch Novocain durchgeführt worden. Als Versuchsmethode diente das Hyaluronidase-Farbstoff-Spreading. Die Ergebnisse zeigten eine mäßige hyaluronidasehemmende Wirkung bei i.v. Applikation des Novocains ohne Huminsäuregaben. JOACHIMOVITS vertrat die Auffassung, daß s.c. Gaben, zumindest therapeutisch, einen stärkeren Effekt ausüben würden, den er im Sinne einer Umstimmung des vegetativen Nervensystems deutete, wie sie ja auch bei der Moorkwirkung angenommen wird.

STICKEL (30) untersuchte deshalb den Einfluß subcutaner Novocaingaben auf die Hyaluronidaseaktivität. Dabei sollte v.a. die Dosisabhängigkeit eines eventuellen Effektes festgestellt werden, um Vergleiche zu den bei i.v. Gabe gefundenen Verhältnissen anstellen zu können. Auch STICKEL überprüfte zunächst die hyaluro-

nidasehemmende Wirkung der Huminsäuren beider Moore und dann in absteigenden Verdünnungsreihen den Effekt des Novocains. Und damit lag die noch wirksame bzw. eben nicht mehr wirksame Grenz-dosis für diese Substanz, eine 0,025 %ige s.c. Novocaingabe, fest (= 0,15 mg Novocain).

In der hier vorgelegten Arbeit war festzustellen, ob durch gleichzeitige Applikation der s.c. nicht mehr wirksamen Novocain-dosis und der i.p. nicht mehr effektiven Huminsäuremeng wieder ein deutlicher Effekt zutage tritt.

M e t h o d i k

Die kristallisierten Huminsäuren wurden in Tyloeschleim suspendiert, 10 mg pulverisierte Huminsäuren in 100 ml Tyloeschleim. Dann wurde im Wasserbad kurz bis ca. 70°C erwärmt. Diese Lösung diente als Stammlösung, von der die oben angegebenen Verdünnungen angefertigt wurden. Bei einem durchschnittlichen Rattengewicht von 217 g sämtlicher Tiere der fünf Versuchsreihen und der Injektion von 0,1 ml Huminsäuren pro Tier gelten folgende Umrechnungen:

Verdünnung 1:10 = 0,001 mg Huminsäuren (HS) pro 0,1 ml u. 0,0046 mg pro kg Tiergewicht.

Verdünnung 1:100 = 0,0001 mg HS pro 0,1 ml u. 0,00046 mg pro kg Tiergewicht.

Verdünnung 1:250 = 0,00004 mg HS pro 0,1 ml u. 0,00018 mg pro kg Tiergewicht.

Verdünnung 1:500 = 0,00002 mg HS pro 0,1 ml u. 0,000092 mg pro kg Tiergewicht.

Als Versuchstiere dienten weiße männliche Ratten mit einem Gewicht von ca. 180-240 g. Die Bauchhaut der Tiere wurde mit Pilca enthaart, wobei auf die Vermeidung von Hautläsionen und Zurückbleiben von Resten der Behaarung und des Enthaarungsmittels zu achten war.

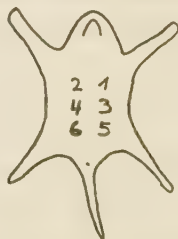
Um die Diffusion der Farbstoff- bzw. Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddeln und die nachherige Abzeichnung nicht durch Spannungsänderungen der Haut, Muskelkontraktionen und dgl. zu verfälschen,

wurden die Tiere mit Evipan narkotisiert, mit 1,4-1,6 ccm einer Lösung von 0,5 g Evipan auf 10 ml aqu. bidest. Damit war i.d.R. eine gute Narkose zu erzielen. Bei längerer Versuchsdauer wurden kleinere Dosen nachinjiziert, um die Tiere in ständiger Bewegungslosigkeit zu halten. Es wurde stets nur eine frisch angesetzte Evipan-Natrium-Lösung der angegebenen Konzentration verwendet.

Als Maßstab für die Hyaluronidasehemmung wurde die Ausbreitungshemmung der durch Hyaluronidase verstärkten Diffusion einer i.c. gesetzten Farbstoffquaddel gewählt (sog. Spreading-Test). 10 min vor und zu verschiedenen Zeiten (30', 60', 90', 120') nach der Applikation der zu untersuchenden Substanzen wurde mit einer 1-ccm-Tuberculinspritze je eine Farbstoff-(F-) und eine Farbstoff-Hyaluronidase-(FH-) Quaddel von je 0,1 ccm Inhalt streng i.c. nach folgendem Schema paarweise in die Bauchhaut gesetzt. Um Fehler in der Ausbreitung der Quaddeln auf der Bauchhaut der verschiedenen Tiere auszugleichen, wurde die Lokalisation der Quaddeln systematisch nach dem Schema des folgenden lateinischen Quadrates geändert.

	I	II	III	IV	V	VI (= Tiere)
1	FH ₆₀	F ₃₀	F ₆₀	F _v	FH _v	FH ₃₀
2	F ₃₀	F ₆₀	F _v	FH _v	FH ₃₀	FH ₆₀
3	F ₆₀	F _v	FH _v	FH ₃₀	FH ₆₀	F ₃₀
4	F _v	FH _v	FH ₃₀	FH ₆₀	F ₃₀	F ₆₀
5	FH _v	FH ₃₀	FH ₆₀	F ₃₀	F ₆₀	F _v
6	FH ₃₀	FH ₆₀	F ₃₀	F ₆₀	F _v	FH _v

Die Zeiten 30 und 60
im obigen Quadrat
sind den Zeiten 90 und
120 analog. I - VI be-
zeichnet die Nummer
des Versuchstieres.



Lokalisation auf
dem Rattenbauch

Zur Sichtbarmachung der Ausbreitung wurden die Quaddeln mit 0,1 ml einer 0,06 wigen Evansblau-Lösung gesetzt; in der Lösung für die

Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddeln wurde zusätzlich hochgereinigte Testeshyaluronidase gelöst, und zwar 7,5 I.E. pro Quaddel (150 I.E. Kinetin-Schering auf 2 ccm Evansblau).

Für jede Versuchsreihe wurden sechs Ratten (als Tiere I-VI bezeichnet) verwendet. Die Quaddelpaare pro Tier bestanden stets aus zwei Vorquaddeln (F_v , FH_v) und zwei Quaddelpaaren der jeweiligen Zeiten (30', 60' bzw. 90', 120'). Die Quaddeln wurden streng innerhalb des Bereichs zwischen Rippenbogen und Leistenbeuge gesetzt.

Nach MADINAVITIA erfolgt die erste Ausbreitung der Quaddeln in zwei Phasen, wobei nur innerhalb der ersten 10 min ein sicherer hyaluronidasehemmender Effekt vorliegt, während daran anschließend resorptive Prozesse überwiegen. Deshalb wurde jeweils 10 min nach dem Setzen der Quaddeln mit einem Filzschreiber die äußere Begrenzung der Quaddeln umrandet und anschließend auf einen durchsichtigen Zelluloidstreifen (abgewaschener Röntgenfilm) aufgekratzt und planimetrisch ausgemessen. Diese Werte sind in den Tabellen in mm^2 angegeben, und deren Mittelwertsdifferenzen dienten als Grundlage der graphischen Darstellungen.

Die Applikation der suspendierten Huminsäuren erfolgte intraperitoneal nach dem Ablesen der Vorquaddeln, jeweils 0,1 ccm der entsprechenden Verdünnung. Die weiteren Quaddelpaare wurden jeweils 30 und 60 min bzw. 90 und 120 min nach dem Zeitpunkt der Huminsäureapplikation gesetzt, und dann jeweils 10 min nach dem Setzen der Quaddeln abgelesen. Die Auswertung erfolgte als Mittelwertsdifferenz gegenüber dem Ausgangswert (F_v und FH_v).

In den kombinierten Versuchsreihen mit Moor (Huminsäuren) und Novocain wurde dieselbe Methodik angewendet und zusätzlich zu der nicht mehr wirksamen Dosis der Huminsäuren unmittelbar nach deren i.p. Applikation die eben nicht mehr wirksame Grenzdosis von Novocain bilateral s.c. außerhalb des Bereiches der F- und FH-Quaddeln unter dem Rippenbogen injiziert.

V e r s u c h s r e i h e n

A) Die Vorversuche mit Tyloseschleim ohne Huminsäuregabe ergaben an einer Versuchsreihe von sechs Tieren außer den im Bereich der

Fehlerbreite liegenden Mittelwertsdifferenzen keine Hyaluronidasehemmung.

B) Dann wurden Versuchsreihen mit den Huminsäuren vom Typ I in verschiedenen Verdünnungen (1:10, 1:100, 1:250, 1:500) durchgeführt, um die geringstwirksame bzw. gerade nicht mehr wirksame Dosis zu ermitteln.

1. Versuchsreihe

Versuche mit je sechs Tieren bei Versuchszeiten von 30 und 60 min bzw. 90 und 120 min nach Huminsäureapplikation und einer Huminsäurenkonzentration von 1:10 der Stammlösung (0,001 mg Huminsäuren pro 0,1 ml; das sind bezogen auf ein mittleres Tiergewicht von 0,217 kg 0,0046 mg pro kg Tiergewicht).

Ergebnisse in den Tabellen 1a und b und in Abb. 1,2,11.

2. Versuchsreihe

Bestimmung der Hyaluronidasehemmung 30,60,90 und 120 min nach Applikation mit einer Huminsäurekonzentration von 1:100 der Stammlösung (das sind bezogen auf ein mittleres Tiergewicht von 0,217 kg 0,00046 mg Huminsäuren pro kg Tiergewicht) bei je sechs Tieren.

Ergebnisse in den Tabellen 2a und b und in Abb. 3,4,12.

3. Versuchsreihe

Für diese Reihe mit wieder zweimal sechs Tieren betrug die Huminsäurekonzentration 1:250 der Stammlösung (das sind bezogen auf ein mittleres Tiergewicht von 0,217 kg 0,00018 mg Huminsäuren pro kg Tiergewicht), die Versuchszeiten nach Applikation wie oben.

Ergebnisse in den Tabellen 3a und b und in Abb. 5,6,13.

4. Versuchsreihe

Versuche zu je sechs Tieren mit einer Huminsäurekonzentration von 1:500 der Stammlösung (das sind bezogen auf ein mittleres Tiergewicht von 0,217 kg 0,000092 mg Huminsäuren pro kg Tiergewicht) und den nämlichen Versuchszeiten.

Ergebnisse in den Tabellen 4a und b und in Abb. 7,8,14.

Damit war die gerade nicht mehr wirksame Grenzkonzentration der in dieser Arbeit zu untersuchenden Huminsäuren festgestellt, und

zwar für die nicht verlängerten Versuchszeiten von maximal 120 min.

C) Die von STICKEL ermittelte gerade nicht mehr wirksame Grenzdosis für Novocain wurde mit einer 0,025 %igen Novocainlösung angegeben. Beide Minimaldosen konnten nun in einer weiteren Versuchsreihe kombiniert appliziert und auf einen eventuellen hyaluronidasehemmenden Effekt untersucht werden.

5. Versuchsreihe

In dieser Versuchsreihe wurde eine Huminsäurekonzentration von 1:500 der Stammlösung (das sind bezogen auf ein mittleres Tiergewicht von 0,217 kg 0,000092 mg Huminsäuren pro kg Tiergewicht) und 0,6 ml einer 0,025 %igen Novocainlösung (das sind bei einem mittleren Tiergewicht von 0,217 kg 0,69 mg Novocain pro kg Tiergewicht) verwendet und Quaddelpaare nach den Versuchszeiten von 30 und 60 bzw. 90 und 120 min post applicationem gesetzt.

Ergebnisse in den Tabellen 5a und b und in Abb. 9,10,15.

T a b e l l e n

Tabelle 1a

Tier	Gew.	F _v	F ₃₀	F ₆₀	FH _v	FH ₃₀	FH ₆₀
I	205g	134	124	124	226	172	173
II	185g	118	120	117	236	194	180
III	210g	128	127	124	236	180	177
IV	215g	128	121	122	240	162	164
V	170g	126	122	123	196	160	174
VI	180g	118	123	117	202	164	156
Mw:	194g	125	123	121	223	172	171
Diff:			-2	-4		-50	-52

Tabelle 1b

Tier	Gew.	F _v	F ₉₀	F ₁₂₀	FH _v	FH ₉₀	FH ₁₂₀
I	235g	136	126	124	224	174	175
II	215g	126	120	119	207	179	164
III	225g	130	128	127	224	179	165
IV	240g	127	128	124	212	166	172
V	250g	128	127	124	210	176	158
VI	160g	124	130	124	220	180	159
Mw:	221g	128	126	124	216	176	166
Diff:			-2	-5		-40	-50

Tabelle 2a

Tier	Gew.	F _v	F ₃₀	F ₆₀	FH _v	FH ₃₀	FH ₆₀
I	195g	140	136	140	260	224	212
II	185g	128	124	132	220	188	180
III	170g	140	130	130	224	200	200
IV	240g	152	138	148	256	208	200
V	240g	128	148	132	224	180	200
VI	225g	128	136	135	236	200	188
MW:	217g	136	135	135	237	200	197
Diff:			-1	-1		-37	-40

Tabelle 2b

Tier	Gew.	F _v	F ₉₀	F ₁₂₀	FH _v	FH ₉₀	FH ₁₂₀
I	210g	156	150	144	260	192	212
II	215g	152	152	148	240	216	200
III	215g	148	140	152	252	250	216
IV	235g	148	144	136	252	204	216
V	205g	136	140	144	256	200	188
VI	200g	132	140	134	240	236	204
MW:	213g	145	144	143	250	216	206
Diff:			-1	-2		-34	-44

Tabelle 3a

Tier	Gew.	F _v	F ₃₀	F ₆₀	FH _v	FH ₃₀	FH ₆₀
I	180g	148	152	148	232	204	220
II	180g	152	140	140	240	224	216
III	190g	148	140	140	260	224	204
IV	185g	140	148	144	244	220	232
V	290g	128	128	124	216	164	208
VI	185g	152	156	148	220	240	216
MM:	201g	145	144	141	235	213	214
Diff:			-1	-3		-23	-21

Tabelle 3b

Tier	Gew.	F _v	F ₉₀	F ₁₂₀	FH _v	FH ₉₀	FH ₁₂₀
I	190g	136	128	126	224	200	200
II	190g	140	140	136	236	206	196
III	180g	132	138	128	220	224	196
IV	175g	148	136	132	228	208	200
V	195g	132	136	140	252	210	216
VI	180g	140	136	136	240	236	208
MM:	185g	138	136	133	233	214	203
Diff:			-2	-5		-19	-31

Tabelle 4a

Tier	Gew.	F _v	F ₃₀	F ₆₀	FH _v	FH ₃₀	FH ₆₀
I	190g	144	148	144	212	216	216
II	205g	136	132	140	272	248	252
III	190g	136	140	140	256	256	252
IV	220g	148	144	128	280	284	272
V	210g	152	148	144	252	248	248
VI	230g	144	140	148	240	244	228
MW:	207g	143	142	141	252	249	245
Diff:			-1	-3		-3	-7

Tabelle 4b

Tier	Gew.	F _v	F ₉₀	F ₁₂₀	FH _v	FH ₉₀	FH ₁₂₀
I	190g	144	152	148	256	216	236
II	200g	148	148	136	264	220	236
III	195g	152	156	156	240	240	256
IV	190g	140	136	136	244	240	240
V	203g	136	132	136	252	256	248
VI	185g	148	148	152	216	224	228
MW:	194g	145	145	144	247	234	241
Diff:			+1	-1		-13	-6

Tabelle 5a

Tier	Gew.	F _v	F ₃₀	F ₆₀	FH _v	FH ₃₀	FH ₆₀
I	230g	148	170	136	236	216	200
II	270g	140	136	124	208	184	168
III	255g	128	136	136	236	200	176
IV	230g	156	152	150	240	236	204
V	270g	124	132	130	236	190	192
VI	275g	128	120	120	210	192	172
MW:	255g	137	141	133	228	203	185
Diff:			+4	-4		-25	-42

Tabelle 5b

Tier	Gew.	F _v	F ₉₀	F ₁₂₀	FH _v	FH ₉₀	FH ₁₂₀
I	285g	130	120	120	240	160	164
II	300g	132	140	136	244	164	192
III	280g	140	146	148	220	180	180
IV	290g	150	144	124	224	188	184
V	290g	134	124	128	244	164	192
VI	275g	120	110	116	248	164	192
MW:	286g	134	131	129	237	170	187
Diff:			-3	-6		-67	-49

D i s k u s s i o n

Die Untersuchungen ergaben, daß die Huminsäuremenge von 0,0046 mg pro kg Tiergewicht (Verdünnung 1:10 einer Stammlösung von 10 mg pulverisierter Huminsäuren in 100 ml Tyloseschleim) eine maximale Hyaluronidasehemmung im Bereich der Versuchszeiten von -52 mm^2 ergab. Eine nur etwas geringere Hyaluronidasehemmung von -44 mm^2 wurde durch eine Substanzmenge von 0,0046 mg pro kg Tiergewicht (Verdünnung 1:100) erzielt. Der im Bereich der Versuchszeiten gemessene Maximalwert der Hyaluronidasehemmung durch eine Huminsäuremenge von 0,00018 mg pro kg Tiergewicht (Verdünnung 1:250) lag mit -31 mm^2 wiederum etwas niedriger. Dagegen trat bei der Applikation von 0,00092 mg pro kg Tiergewicht (Verdünnung 1:500) mit -13 mm^2 kaum noch eine wesentliche Hemmung der Hyaluronidaseaktivität auf. Die angegebenen Dosen in mg beziehen sich auf ein durchschnittliches Tiergewicht von 217 g.

Die von STICKEL (30) als wirksame Grenzdosis festgestellte Novocainmenge lag bei 0,15 mg pro Tier (0,6 ml einer 0,025 %igen Lösung); das sind bei einem mittleren Tiergewicht von 0,319 kg 0,47 mg Novocain pro kg Tiergewicht (nach STICKEL). Hierbei ergab sich ein maximaler Hemmwert der Hyaluronidaseaktivität von -8 mm^2 .

BRHARD (29) hatte schon früher in seinen Untersuchungen mit einer Menge von 2 mg Novocain pro Tier (0,1 ml einer 2 %igen Lösung) eine deutliche Hemmung der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel erzielt; der Maximalwert der Hemmung lag im untersuchten Zeitraum von 180 min bei -35 mm^2 . Im Unterschied zu der hier vorgelegten Arbeit wurden diese Versuche jedoch mit intravenöser Applikation durchgeführt. Vergleichsweise wurde noch ein Versuch mit einer Huminsäureapplikation intraperitoneal durchgeführt, um Ausgangswerte für Untersuchungen einer eventuellen Beeinflussung der durch Huminsäuren erzielten Hyaluronidasehemmung durch Novocain zu bekommen.

Um eine eventuelle synergistische Wirkung von Novocain und Huminsäuren festzustellen, mußten also beide oben erwähnte, praktisch nicht mehr wirksame Grenzdosen appliziert werden. Bei diesem Versuch ergab sich eine maximale Hyaluronidasehemmung von -67 mm^2 .

die stärker war als bei der höchsten von uns angewandten Huminsäure-dosis von 0,0046 mg pro kg Körpergewicht. Allerdings war im Kurvenablauf insofern ein Unterschied festzustellen, als bei der Huminsäureapplikation der Maximalwert der Hyaluronidasehemmung 30 min nach Applikation der Huminsäuren praktisch erreicht wird, während bei der Kombination der Huminsäuren mit Novocain die Hyaluronidasehemmung erst langsam zunimmt und ihren Maximalwert bei 90 min p.a. erkennen läßt. Dieses Verhalten des Kurvenverlaufs entspricht auch nicht der alleinigen Novocainwirkung in höheren Konzentrationen. Nur bei einer injizierten Menge von 0,15 mg Novocain pro Tier wird erst bei 90 min p.a. der Maximalwert annähernd erreicht (Stickel).

Bei niedrigen Huminsäurekonzentrationen wird ein eindeutiges verspätetes Eintreten der maximalen Hemmung nicht gefunden.

Es handelt sich bei der kombinierten Wirkung von Huminsäuren und Novocain eindeutig um einen synergistischen Effekt, der über die additive Wirkung der Einzelsubstanzen hinausgeht.

Z u s a m m e n f a s s u n g

In der hier vorgelegten Arbeit wurden Versuche mit Huminsäuren aus einem der beiden brasilianischen Moorkommen durchgeführt. Es ergab sich, daß die größte angewendete Huminsäuremenge von 0,0046 mg pro kg Tiergewicht eine starke maximale Hyaluronidasehemmung von -52 mm^2 bewirkte, während die Konzentration von 0,000092 mg pro kg eine nicht mehr signifikante Hemmung von -13 mm^2 als Maximalwert ergab. Diese Menge wurde als Grenzkonzentration für die weiteren Untersuchungen verwendet.

Die eigentliche Fragestellung galt einem eventuellen synergistischen Effekt bei der gemeinsamen Applikation von Huminsäuren und Novocain. Für letzteres war in früheren Untersuchungen bereits eine eindeutige Hyaluronidasehemmung festgestellt worden. STICKEL hatte als gerade nicht mehr wirksame Grenzdosis eine Novocainmenge von 0,15 mg ermittelt.

Es mußten also die beiden Grenzdosen von Huminsäuren und Novocain gemeinsam gegeben werden. Dabei zeigte sich eine eindeutige Hyaluronidasehemmung mit einem Maximalwert bei -67 mm^2 , der höher lag als bei der höchsten oben erwähnten Huminsäuremenge. Damit dürfte die synergistische Wirkung der beiden Substanzen erwiesen sein.

L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s

- 1) Domenjoz, R.: Arch.exp.Path.Pharmakol.225,14 (1955)
- 2) Arnold, I.: Diss. München 1965
- 3) Lothmar, R.: Zschr.Rheumaforsch. 19,1 (1960)
- 4) Mathies, H.: Med.Monatsschrift 10, 685-688 (1958)
- 5) Mathies, H. und v.Werther, G.: Zschr.angew.Bäder-Klimaheilk.5(1958)
- 6) Mathies, H., Fuchs, E. und Hiekmann, D.: Fundamenta Balneo-Bio-climatol.1 (1960)
- 7) Achtiani, A.: Diss. München 1961
- 8) Lutz, D.: Diss. München 1961
- 9) Windsheimer, M.: Diss. München 1963
- 10) Mathies, H. und v.Werther, G.: Zschr.f.angew.Bäder-Klimah.6(1958)
- 11) Mathies, H.: Zschr. f.Rheumaforsch. 9/10 (1958)
- 12) Mathies, H.: Med.Monatsschr. 11,791 (1957)
- 13) Mathies, H.: Die Bedeutung des Adrenalins f.d.Hyaluronidasehemmung, Ärzt.Forsch. 1958 (im Druck)
- 14) Mathies, H.: Hyaluronidasehemmung durch Acetylsalicylsäure bei adrenaletomierten u.hypophysektomierten Tieren (im Manuskript) 1958
- 15) Mathies, H. u. Jankowski, A.: Klin.Wschr.35,892 (1957)
- 16) Mathies, H.: Über die Bedeutung der Katecholamine für die Hyaluronidasehemm. (i.Manuskript).Klin.Wschr.1958
- 17) Brüggemann, Karg und Käppeler: Vitamine Horm. 7,200 (1956)
- 18) Kaiser, I.: Diss.München 1958
- 19) Kmietowicz, F.; Koskowski, W.: Balneologe 4 ,524 (1934)
- 20) Fellingner, K., Schmid, J.: Med.Klinik 48 (1953) 15:528
- 21) Reichel, H. zit. Egghart, F.: Sonderheft f.Moortherapie, Paracelsus-Beihefte (1955)
- 22) Mathies, H.: Archiv f.physikal.Therapie 6 (1959)
- 23) Lignau, W.: Diss.München 1960
- 24) Mathies, H.: Zschr.f.Rheumaforsch. 7/8 (1959)
- 25) Vogel, H.: Diss.München 1961
- 26) Rösch, U.: Diss. München
- 27) Haupt, E.: Diss.München 1959
- 28) Osterburg, J.: Diss.München 1966
- 29) Erhard, W.: Diss. München 1966
- 30) Stickel, H.: Diss. München 1967
- 31) Joachimovits: Persönl.Mitteilung

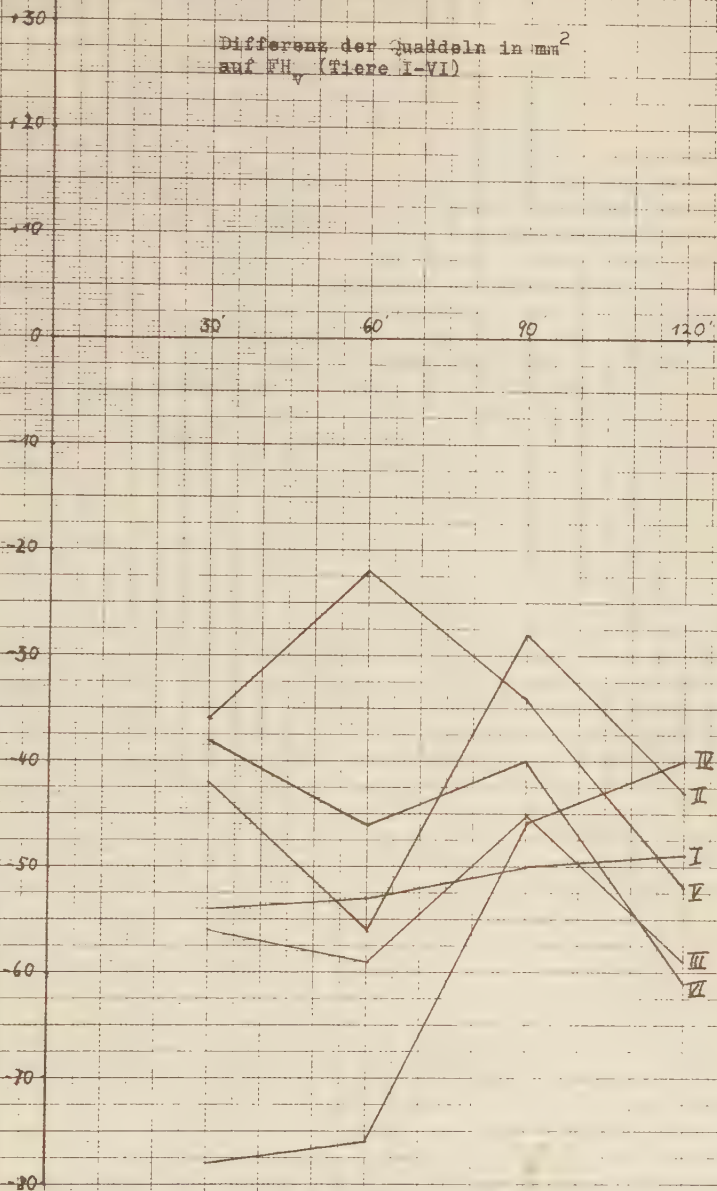


Abb.1: Es wurden 0,1 ml eines Huminsäuregemisches (Konzentration 1:10) intraperitoneal appliziert; das sind bei einem mittleren Tiergewicht von 0,207 kg 0,0048 mg Huminsäuren pro kg Tiergewicht. Die Ergebnisse beziehen sich auf die Ausbreitung der Farbstoff-Hyaluronidase-Vorquaddel (FH_V).

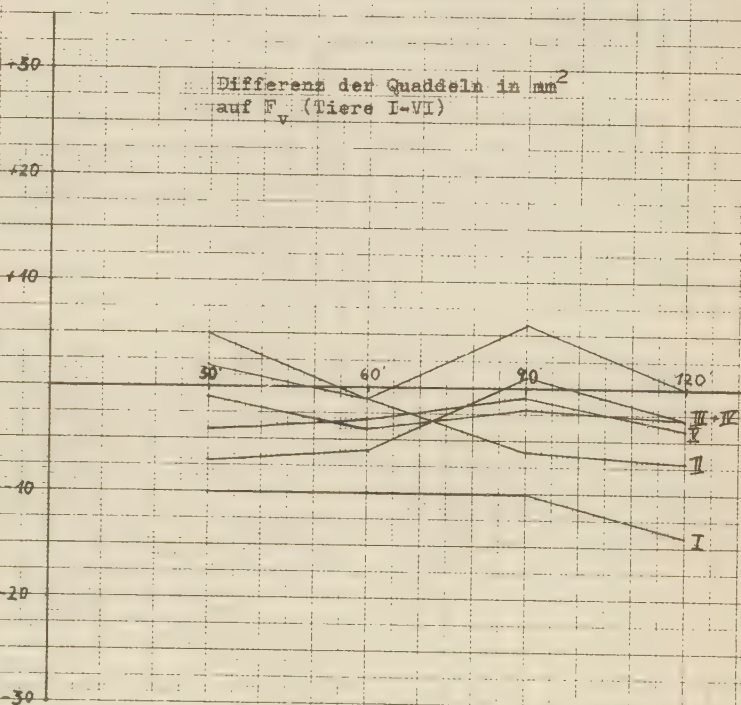


Abb. 2: Gleichzeitig mit dem Versuch von Abb. 1 wurden bei denselben Tieren zur Kontrolle reine Farbstoffquaddeln gesetzt. Die Ergebnisse beziehen sich auf die Ausbreitung der Farbstoff-Vorquaddel (F_v).

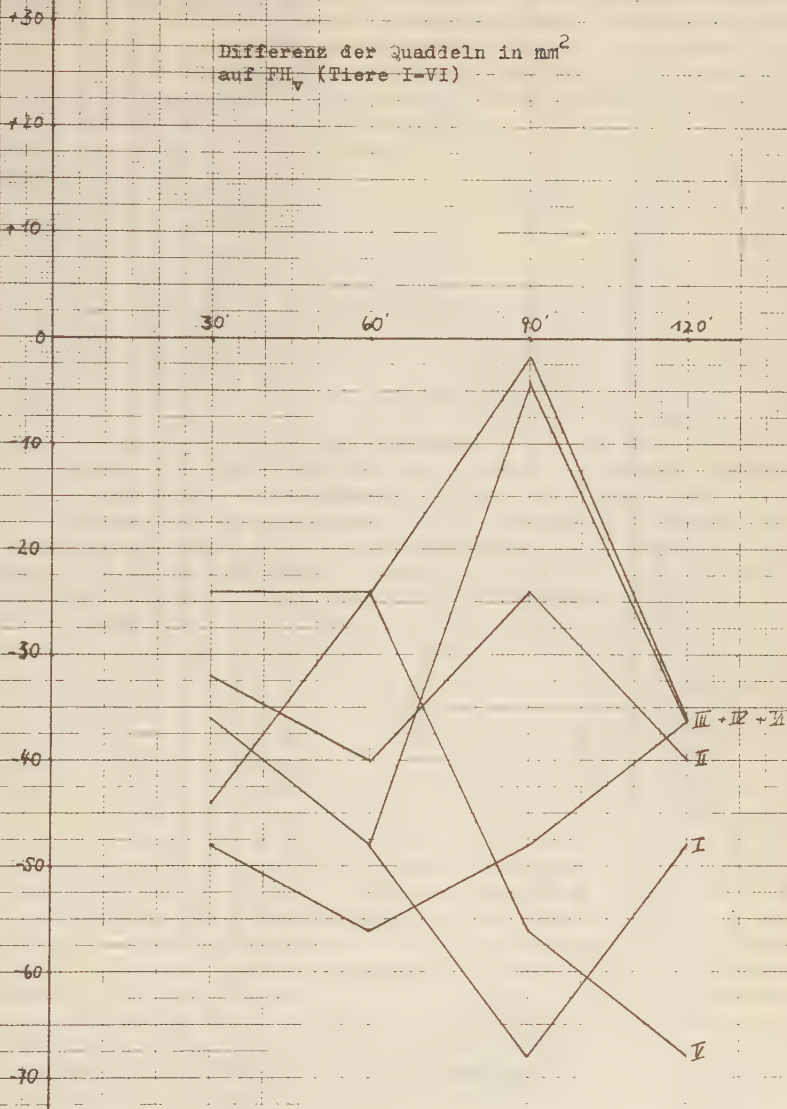


Abb.3: Es wurden 0,1 ml eines Huminsäurengemisches (Konzentration 1:100) intraperitoneal injiziert; das sind bei einem mittleren Tiergewicht von 0,215 kg 0,00047 mg Huminsäuren pro kg Tiergewicht. Die Ergebnisse beziehen sich auf die Ausbreitung der Farbstoff-Hyaluronidase-Vorquaddel (FH_V).

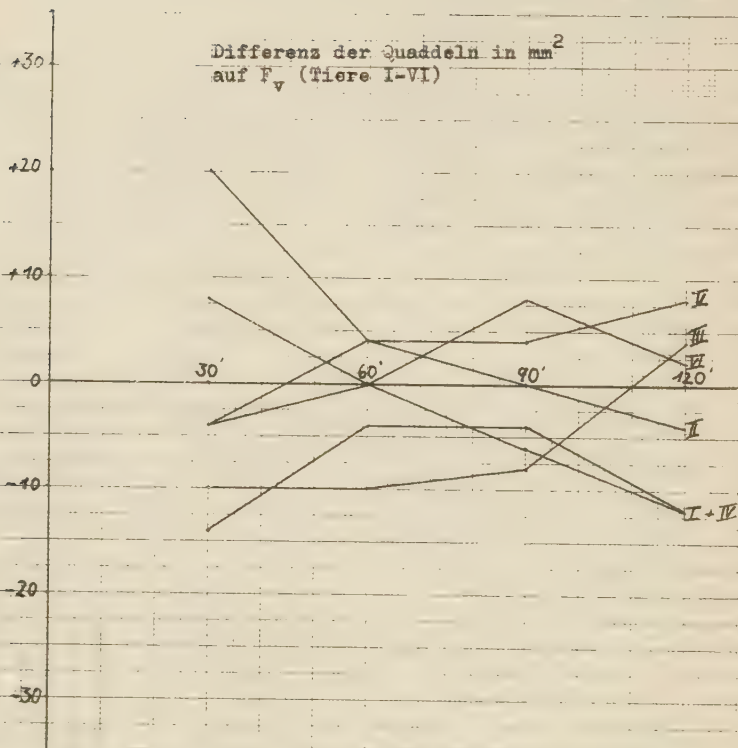


Abb. 4: Gleichzeitig mit dem Versuch von Abb. 3 wurden bei denselben Tieren zur Kontrolle reine Farbstoffquaddeln gesetzt. Die Ergebnisse beziehen sich auf die Ausbreitung der Farbstoff-Vorquaddel (F_v).

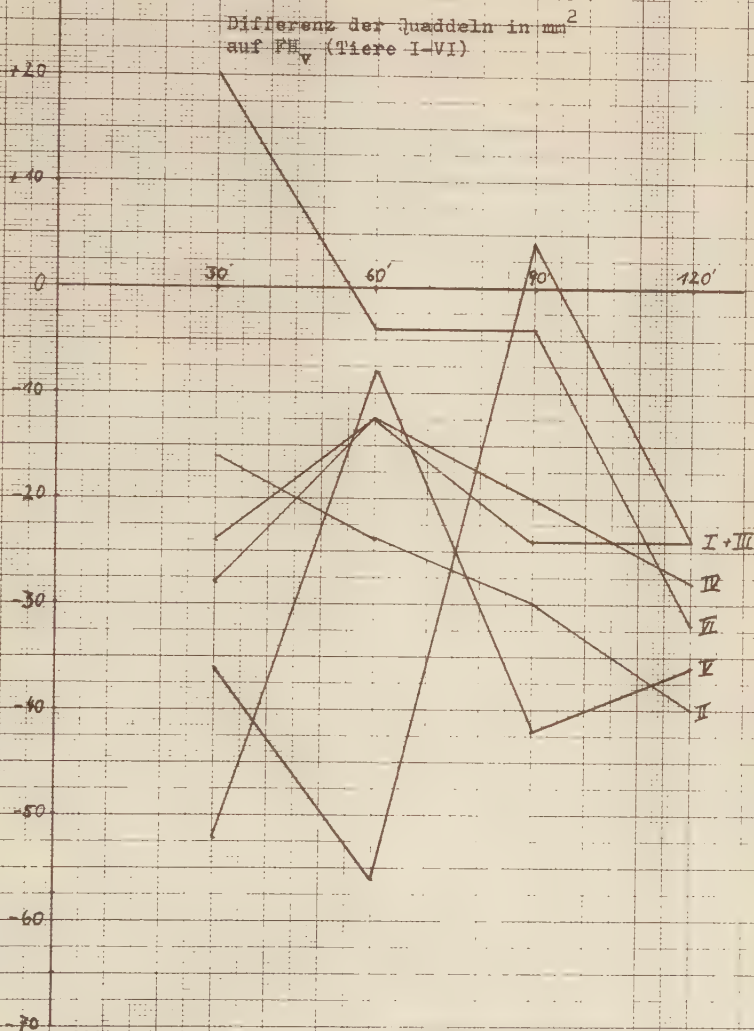


Abb. 5: Es wurden 0,1 ml eines Huminsäuregemisches (Konzentration 1:250) intraperitoneal injiziert; das sind bei einem mittleren Tiergewicht von 0,195 kg 0,0002 mg Huminsäuren pro kg Tiergewicht. Die Ergebnisse beziehen sich auf die Ausbreitung der Farbstoff-Hyaluronidase-Vorquaddel (FH_V).

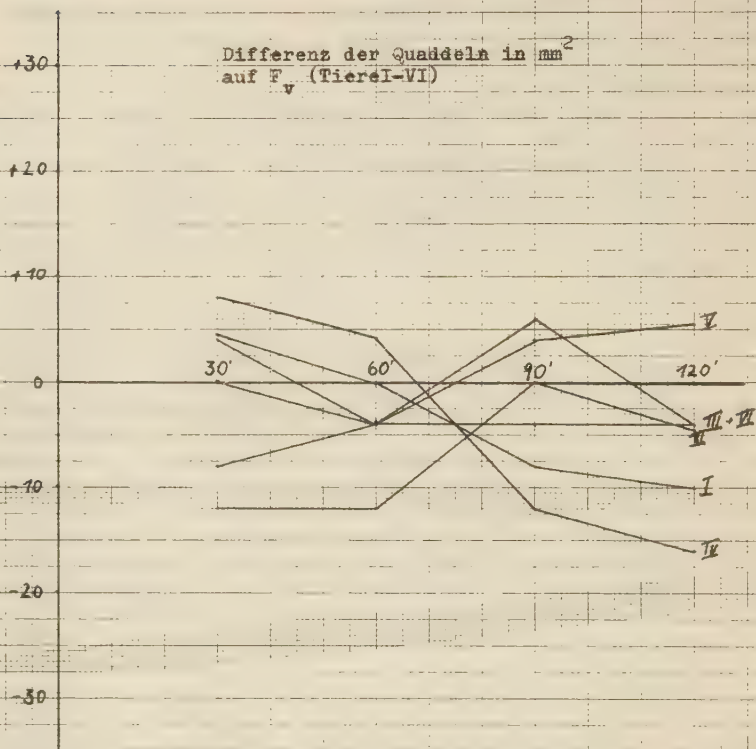


Abb. 6: Gleichzeitig mit dem Versuch von Abb. 5 wurden bei denselben Tieren zur Kontrolle reine Farbstoff-Quaddeln gesetzt. Die Ergebnisse beziehen sich auf die Ausbreitung der Farbstoff-Vorquaddel (F_v).

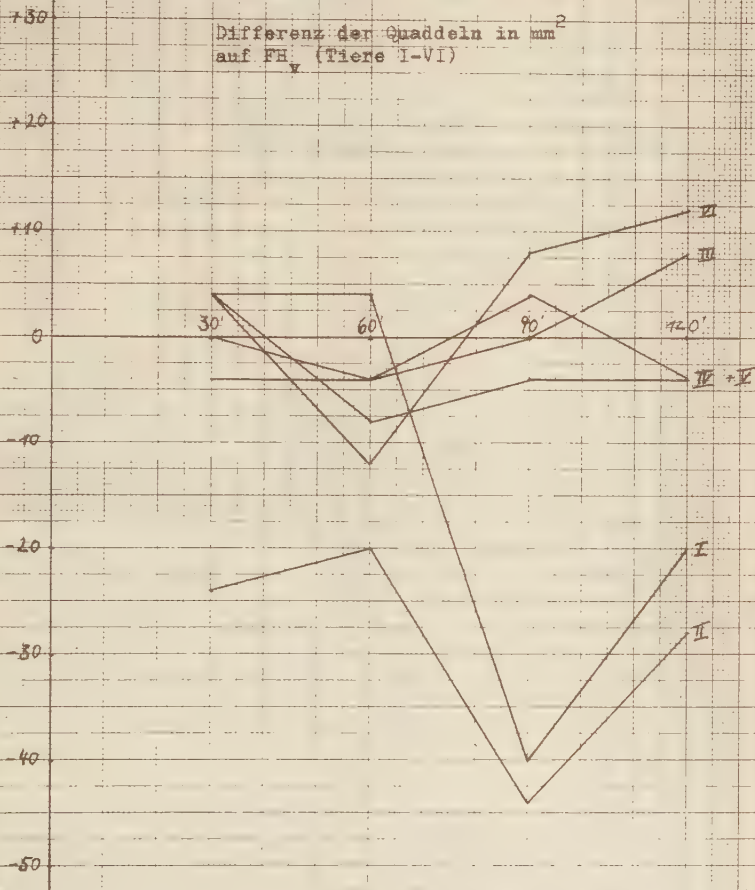


Abb. 7: Es wurden 0,1 ml eines Huminsäuregemisches (Konzentration 1:500) intraperitoneal injiziert; das sind bei einem mittlerem Tiergewicht von 0,200 kg 0,0001 mg Huminsäuren pro kg Tiergewicht. Die Ergebnisse beziehen sich auf die Ausbreitung der Farbstoff-Hyaluronidase-Vorquaddel (FH_v).

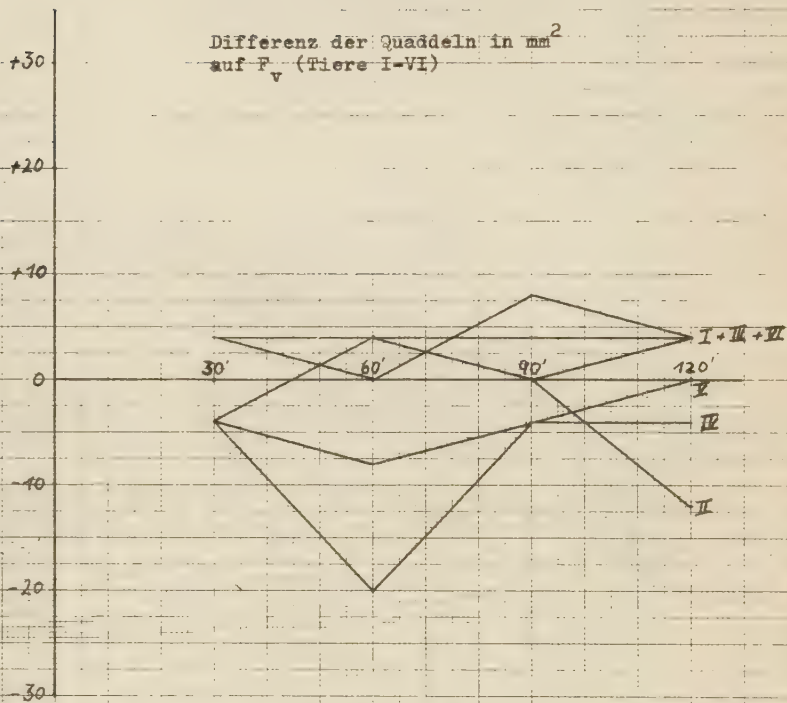


Abb. 8: Gleichzeitig mit dem Versuch von Abb. 7 wurden bei denselben Tieren zur Kontrolle reine Farbstoff-quaddeln gesetzt. Die Ergebnisse beziehen sich auf die Ausbreitung der Farbstoff-Vorquaddel (F_v).

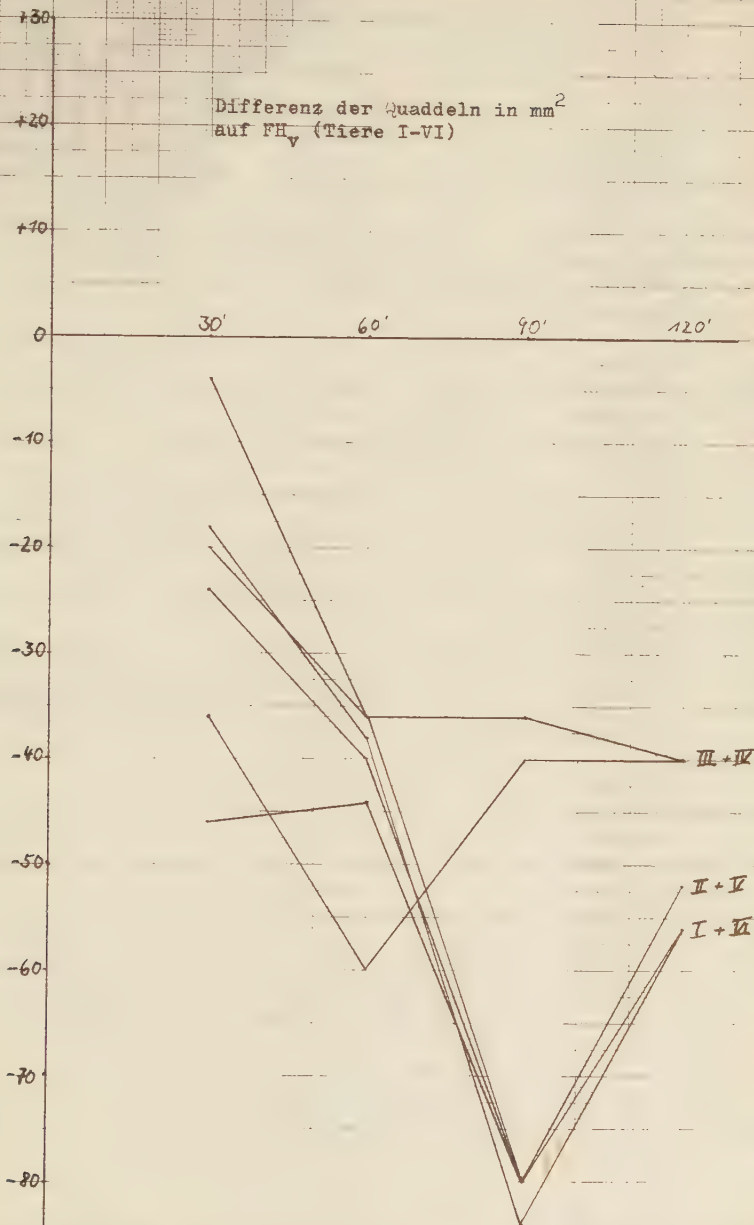


Abb. 9: Es wurden 0,1 ml eines Huminsäuregemisches (Konz. 1:500, das sind bei einem mittl. Tiergewicht von 0,270 kg 0,000074 mg Huminsäure pro kg Tiergew.) injiziert und außerdem gleichzeitig bilateral (je 0,3 ml) unter dem Rippenbogen eine 0,025 %ige Novocainlösung, also 0,15 mg Novocain, das sind bei demselben mittl. Tiergew. 0,55 mg Novocain pro kg Tiergew. Die Ergebnisse beziehen sich auf die Ausbreitung der Farbstoff-Hyaluronidase-Vorquaddel (FH_V)

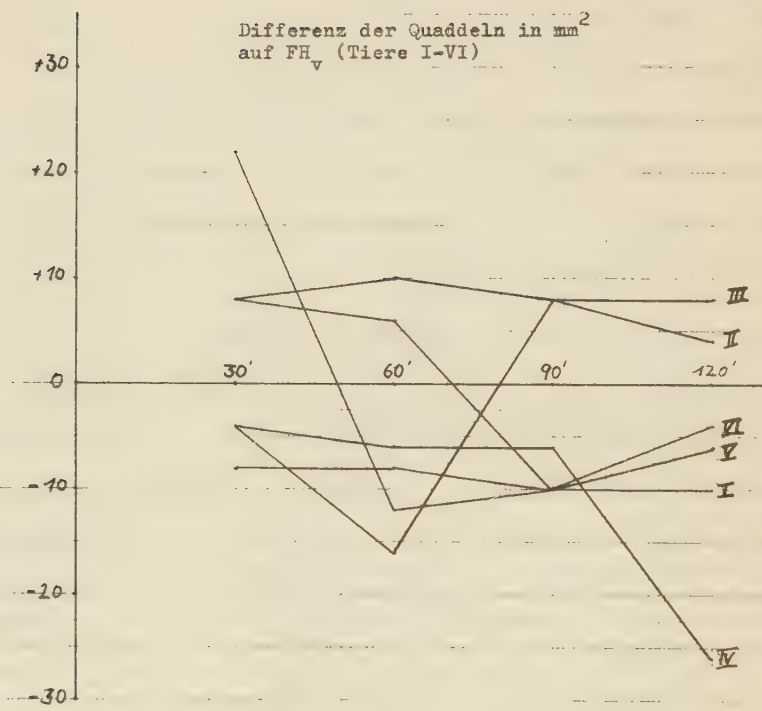


Abb.10: Gleichzeitig mit dem Versuch in Abb.9 wurden bei denselben Tieren zur Kontrolle reine Farbstoff-Quaddeln gesetzt. Die Ergebnisse beziehen sich auf die Ausbreitung der Farbstoff-Vorquaddeln (F_V).

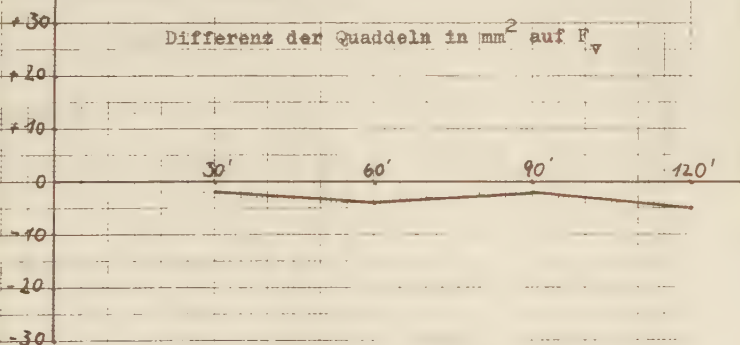
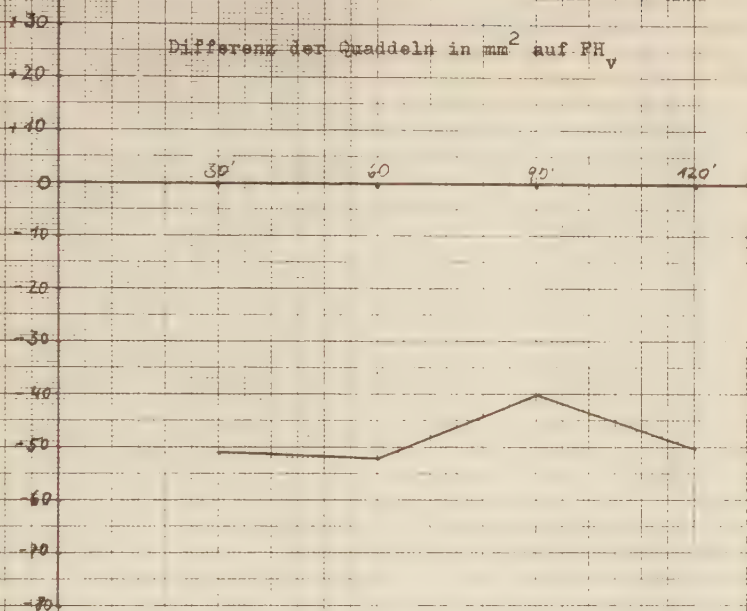


Abb.11: Darstellung der MITTELWERTE bei Applikation von 0,1 ml Huminsäuren der Verdünnung 1:10 einer Stammlösung (oben) und der gleichzeitig gesetzten reinen Farbstoff-quaddeln (unten).

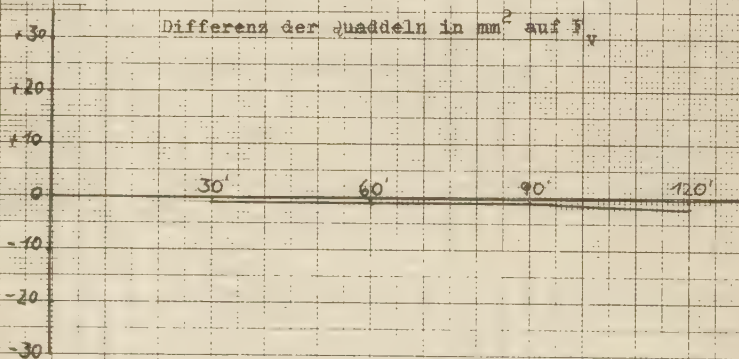
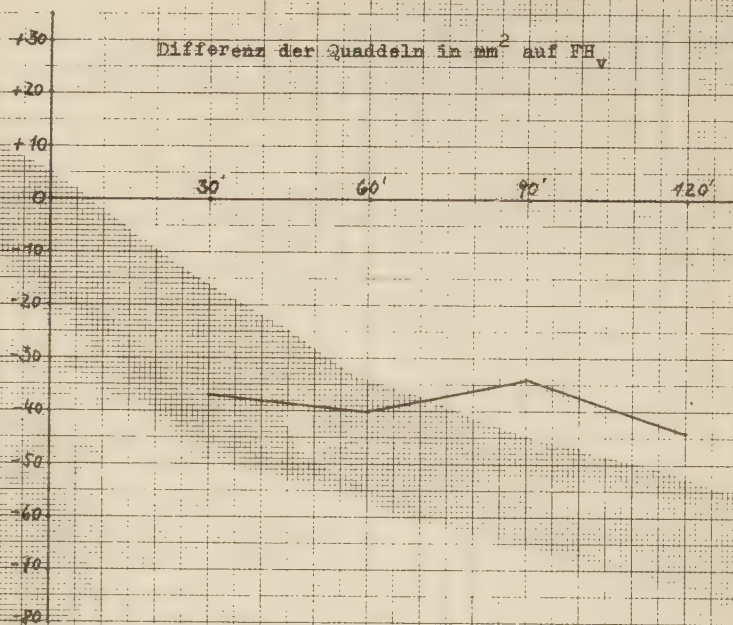


Abb. 12: Darstellung der MITTELWERTE bei Applikation von 0,1 ml Huminsäuren der Verdünnung 1:100 einer Stammlösung (oben) und der gleichzeitig gesetzten reinen Farbstoff-Quaddeln (unten).

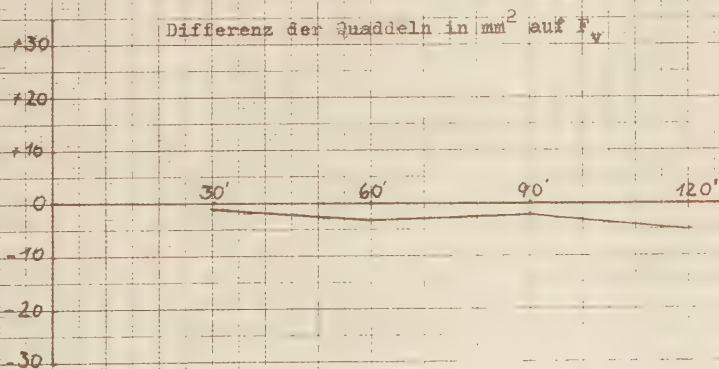
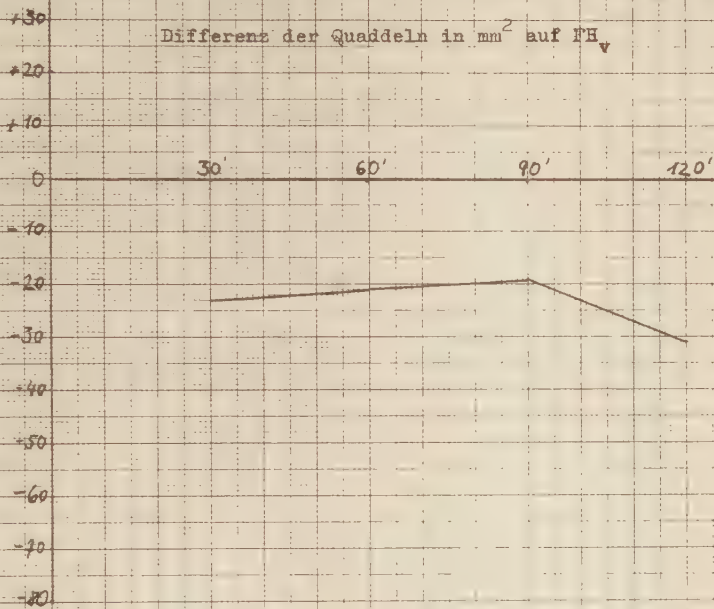


Abb. 13: Darstellung der MITTELWERTE bei Applikation von 0,1 ml Huminsäuren der Verdünnung 1:250 einer Stammlösung (oben) und der gleichzeitig gesetzten reinen Farbstoff-Quaddeln (unten).

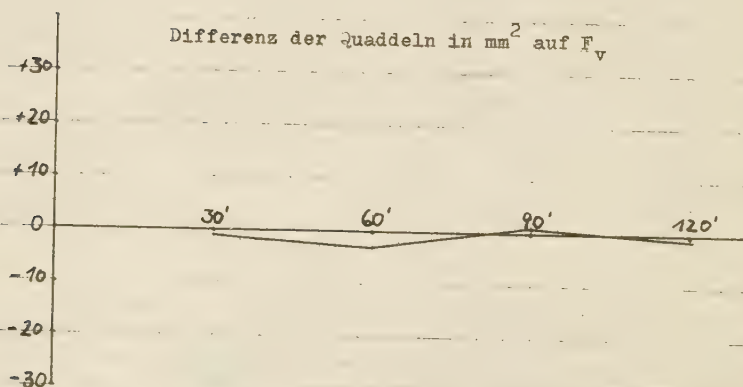
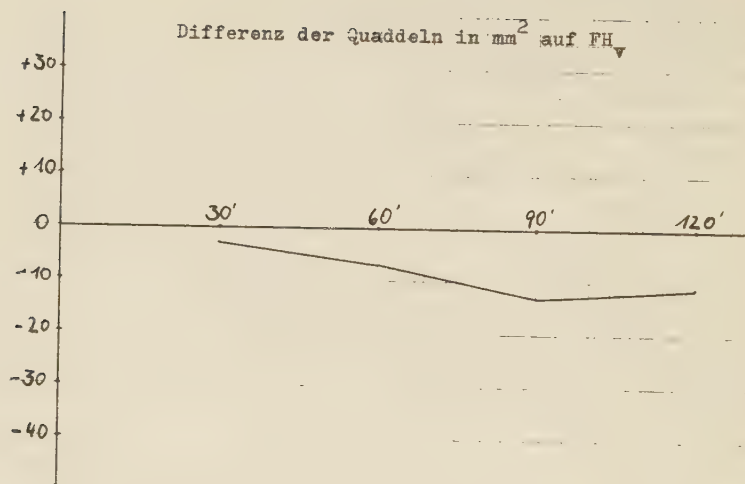


Abb.14: Darstellung der MITTELWERTE bei Applikation von 0,1 ml Huminsäuren der Verdünnung 1:500 einer Stammlösung (oben) und der gleichzeitig gesetzten reinen Farbstoff-Quaddeln (unten).

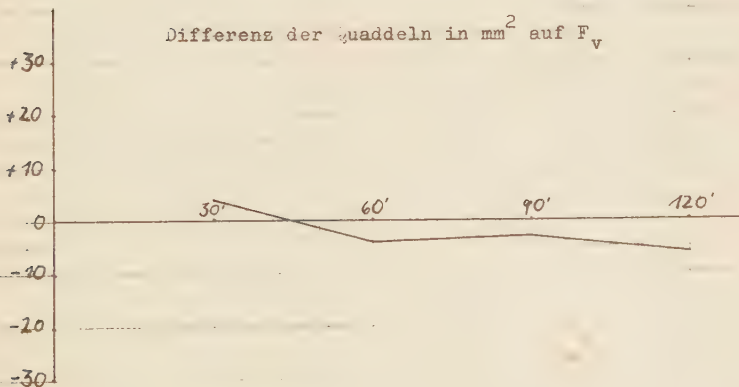
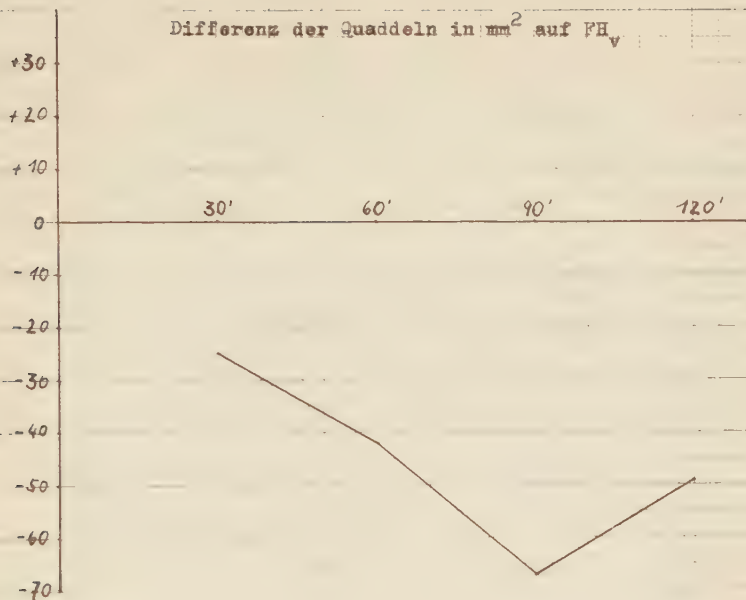


Abb.15: Darstellung der MITTELWERTE bei gleichzeitiger Applikation von 0,1 ml Huminsäuren und von 0,6 ml einer 0,025 %igen Novocainlösung (oben) und der gleichzeitig gesetzten reinen Farbstoff-Quaddeln (unten).

An dieser Stelle darf ich Herrn Privatdozent Dr. H. Mathies für die Überlassung des Themas und die Unterstützung bei der Gestaltung der Arbeit vielmals danken. Herrn Professor Dr. med. Joachimovits (Universidade Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasilien) möchte ich für die Anregung zu den Untersuchungen und die Isolierung der Huminsäuren aus den Moorproben eines süd-brasilianischen Moores meinen Dank aussprechen.

Herrn Professor Dr. W. Seitz danke ich für die Ermöglichung der Untersuchungen an seinem Institut.

Lebenslauf

Als Sohn des Kaufmanns Johann Blum und seiner Frau Emmy Blum, geborene Bonassi, wurde ich am 1.9.1939 in München geboren. Ich besuchte fünf Jahre die Volksschule, trat dann in das Münchener Wilhelmsgymnasium ein und absolvierte dort die Reifeprüfung im Juni 1959.

Mein erstes Studium (ev. Theologie, Philosophie, neue Sprachen) begann ich in München und setzte es fort an der theologischen Hochschule Neuendettelsau und an der Universität Tübingen. Nach fünf Semestern habe ich es abgebrochen und mit Medizin in München begonnen.

Vorphysikum 1963, Physikum 1964 und med. Staatsexamen 1968 in München.

